

密褶红菇化学成分研究

麻兵继, 刘吉开*

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘要:从红菇科密褶红菇(*Russula densifolia*)的子实体中分离得到 15 个化合物, 经波谱分析鉴定为 D-阿洛糖醇(1)、硬脂酸(2)、3-羧酸呋喃(3)、(22*E*, 24*R*)-3 β -hydroxyergosta-5, 22-diene(4)、3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxy-24 ξ -methylcholesta-6-ene(5)、琥珀酸酐(6)、3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-diene(7)、软脂酸(8)、尿嘧啶(9)、顺丁烯二酸(10)、硫代乙酸酐(11)、1, 4-丁二酸(12)、1-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷(13)、2-acetamino-2-deoxy- β -D-glucose(14)和cerebroside B(15)。

关键词:高等真菌; 红菇科; 密褶红菇; 菌体; 脑酰胺

中图分类号: R284.1

Chemical study on *Russula densifolia*

MA Bing-ji, LIU Ji-kai*

(Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Fifteen compounds were isolated from higher fungus *Russula densifolia*. They were identified as D-allitol(1), stearic acid(2), furan-3-carboxylic acid(3), (22*E*, 24*R*)-3 β -hydroxyergosta-5, 22-diene(4), 3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxy-24 ξ -methylcholesta-6-ene(5), dihydrofuran-2, 5-dione(6), 3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-diene(7), palmitic acid(8), uracil(9), cis-butenedioic(10), thioacetic anhydride(11), succinic acid(12), 1-ethyl- β -D-glycoside(13), 2-acetamino-2-deoxy- β -D-glucose(14) and cerebroside B(15).

Key words: higher fungi; Russulaceae; *Russula densifolia*; steroid; ceramide

红菇科(Russulaceae)是担子菌亚门(Basidiomycotina)伞菌目(Agaricales)最大的科之一^[1], 据统计, 全世界约有 577 种, 广布于世界各地。它包括乳菇属(*Lactarius*)和红菇属(*Russula*)。乳菇属的环纹乳菇(*Lactarius insulsus*)、辣味乳菇(*L. piperatus*)、绒白乳菇(*L. vellereus*)和红菇属的大红菇(*Russula alutacea*)、密褶红菇(*R. densifolia*)、臭红菇(*R. foetens*)等, 都是著名中药舒筋丸的配料^[2]。多年来国外学者对于乳菇属真菌的次生代谢产物进行了系统的研究, 而对红菇属则相对报道较少^[3,4]。最近有报道从红菇属真菌中分离得到了一系列结构新颖的倍半萜和三萜酸^[5-7]。

密褶红菇(*Russula densifolia*)子实体中等大, 菌盖初期污白色, 后呈灰褐色至暗褐色, 受伤处变红色

后变黑色。我们对密褶红菇子实体进行的化学研究中得到的 15 个化合物, 经波谱证据分别鉴定为 D-阿洛糖醇、硬脂酸、3-羧酸呋喃、(22*E*, 24*R*)-3 β -hydroxyergosta-5, 22-diene、3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxy-24 ξ -methylcholesta-6-en、琥珀酸酐、3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-diene、软脂酸、尿嘧啶、顺丁烯二酸、硫代乙酸酐、1, 4-丁二酸、1-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷、2-acetamino-2-deoxy- β -D-glucose 和 cerebroside B。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

密褶红菇(*R. densifolia*)于 2003 年 7 月采于云南哀牢山, 标本由昆明植物研究所臧穆教授鉴定, 标本储存于中国科学院昆明植物研究所标本馆(标本号: HKAS-39210)。

熔点由四川大学科仪厂生产的 XPC-1 型显微熔点仪测定, 温度计未校正; 比旋光值由 JASCO-20 旋

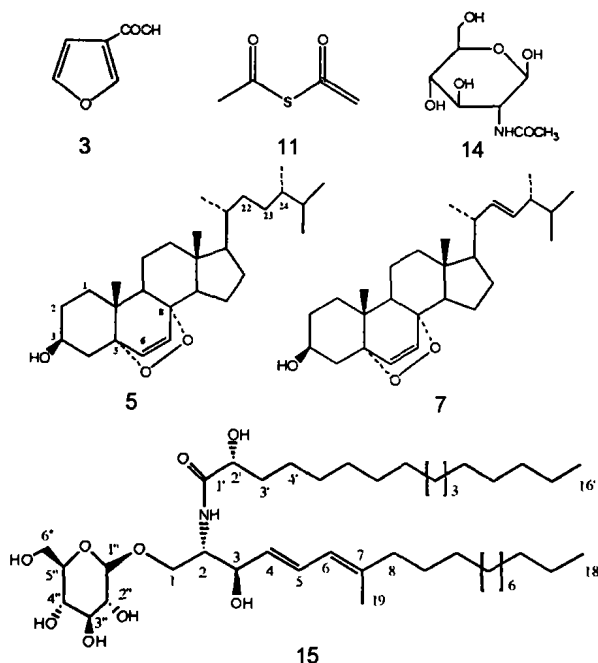
光仪测定; IR 由 Bio-Rad FS-135 型红外光谱仪测定; 质谱由 VG Autospec-3000 质谱仪测定; 核磁共振由 Bruker AM-400, AM-500 测定, 内标为 TMS。

柱层析硅胶(200~300 目)和薄层层析硅胶由青岛海洋化工厂生产。显色方法为 254、365 nm 荧光, 10% 硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理加热显色及碘蒸气显色。

1.2 提取与分离

新鲜密褶红菇 20 kg 甲醇室温浸泡得到浸膏约 500 g, 甲醇提取液浓缩析出化合物 1(220 mg); 浸膏与 80~100 目硅胶 1:1 拌样, 分别用石油醚、氯仿及氯仿-甲醇梯度洗脱。石油醚部分约 50 g, 经石油醚-氯仿系统(95:5~85:15)硅胶柱层析得到化合物 2(20 g)和 4(4 mg); 氯仿部分约 40 g, 经氯仿-乙酸乙酯系统(95:5~80:20)硅胶柱层析得到化合物 3(6 g)、5(5 mg)、6(40 mg)和 9(2.6 g); 氯仿-甲醇(9:1)部分得到约 150 g, 经硅胶柱层析, 氯仿-甲醇系统洗脱。在氯仿-甲醇(95:5)部分, 析出化合物 11(400 mg), 氯仿-甲醇(90:10)部分经 RP-18 反复柱层析得到化合物 8(6 mg)、10(120 mg)、12(110 mg)。氯仿-甲醇(85:15)部分得到化合物 13(2.5 g)和 14(10 g); 氯仿-甲醇(8:2)部分得到约 50 g, 经硅胶柱氯仿-乙酸乙酯(7:3)洗脱所得部分再由 RP-18 柱层析(甲醇:水=8:2)得到化合物 15(6 mg)。

1.3 化学结构及鉴定



D-阿洛糖醇(1) $C_6H_{14}O_6$, 无色针晶(甲醇), mp. 154.5~156 °C, $[\alpha]_D^{20}$: +0° (c=0.1, H_2O);

FAB-MS m/z (%): 181 $[M-H]^-$ (100); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ : 73.6 (C-3, 4), 72.0 (C-2, 5), 66.0 (C-1, 6)。NMR 数据与文献值符合^[8]。

硬脂酸(2) $C_{18}H_{36}O_2$, 白色固体, mp. 67~69 °C; EI-MS m/z (rel. int. %): 284 $[M]^+$ (94), 241 (45), 185 (98), 171 (40), 143 (25), 129 (95)。NMR 数据与文献值符合^[9]。

3-羧酸呋喃(3) $C_5H_4O_3$, 白色片状结晶(甲醇), 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.62 (br. s, H-2), 7.30 (dd, $J=1.6\sim3.5$ Hz, H-5), 6.53 (d, $J=1.6$ Hz, H-4) FAB-MS m/z (%): 111 $[M-H]^-$; ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 111.9 (C-4), 119.2 (C-3), 144.4 (C-5), 146.9 (C-2), 161.9 (-COOH)。NMR 数据与文献值符合^[10]。

(22E, 24R)-3 β -Hydroxyergosta-5, 22-diene (4) $C_{28}H_{42}O$, 无色针晶(氯仿), mp. 178~180 °C; EI-MS m/z (rel. int. %): 398 $[M]^+$ (25), 383 $[M-CH_3]^+$ (38), 380 $[M-H_2O]^+$ (10), 365 (10), 337 (21), 255 (82), 125 (30), 105 (50), 69 (96), 55 (100)。以上数据与已知品对照一致。

3 β -Hydroxy-5 α , 8 α -epidioxy-24 ξ -methylcholesta-6-ene(5) $C_{28}H_{46}O_3$, 无色针晶(氯仿), mp. 185~186 °C; $[\alpha]_D^{20}$: -19° (c=0.1, $CHCl_3$); 红外光谱: IR (KBr) ν_{max} : 3310, 3010, 1740, 1460, 1278, 1078, 1046, 690 cm^{-1} ; EI-MS m/z (rel. int. %): 430 $[M]^+$ (8), 412 $[M-H_2O]^+$ (21), 398 $[M-2 \times O]^+$ (20), 251 (35), 55 (100); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.49, 6.22 (2H, d, $J=8.5$ Hz, 6 and 7-H), 3.95 (1H, m, 3-H), 0.89 (3H, s, 19-H); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 35.6 (C-1), 30.1 (C-2), 66.2 (C-3), 38.8 (C-4), 82.1 (C-5), 135.3 (C-6), 130.7 (C-7), 79.4 (C-8), 51.0 (C-9), 36.8 (C-10), 23.1 (C-11), 38.9 (C-12), 44.6 (C-13), 52.4 (C-14), 20.5 (C-15), 28.2 (C-16), 56.2 (C-17), 12.6 (C-18), 18.2 (C-19), 39.0 (C-20), 18.8 (C-21), 33.4 (C-22), 30.5 (C-23), 39.4 (C-24), 31.3 (C-25), 17.6 (C-26), 20.4 (C-17), 15.4 (C-28)。

琥珀酸酐(6) $C_4H_4O_3$, 白色针晶(氯仿), mp. 102~104 °C; EI-MS m/z (rel. int. %): 100 $[M]^+$ (55), 72 (20), 55 (100); 1H NMR (500 Hz, CD_3OD) δ : 2.4 (4H, brs 2 $\times$ CH_2); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 165.5 (CO), 25.8 (CH_2)。

3 β -Hydroxy-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-diene

(7) $C_{28}H_{44}O_3$, 无色针晶(氯仿), mp. 177 ~ 179 °C, $[\alpha]_D^{20}$: -20° (c = 0.1, $CHCl_3$); 红外光谱: IR (KBr) ν_{max} : 3525, 3309, 2955, 2812, 1650, 1460, 1380, 1047, 1043, 968, 935, 858 cm^{-1} ; EI-MS m/z (rel. int. %): 428 $[M]^+$ (10), 410 $[M-H_2O]^+$ (10), 396 $[M-2 \times O]^+$ (40), 363 (35), 251 (85), 55 (100); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 135.4 (C-6), 135.1 (C-22), 132.3 (C-23), 130.6 (C-7), 82.2 (C-5), 79.4 (C-8), 66.3 (C-3), 56.1 (C-17), 51.6 (C-14), 51.0 (C-9), 44.5 (C-13), 42.7 (C-24), 39.7 (C-12), 36.9 (C-10), 34.6 (C-1), 33.0 (C-25), 30.0 (C-2), 28.6 (C-16), 23.3 (C-11), 20.6 (C-21), 20.5 (C-15), 19.8 (C-26), 19.6 (C-27), 18.1 (C-19), 17.5 (C-28), 12.8 (C-18)。NMR 数据与文献一致^[8,12]。

软脂酸(8) $C_{16}H_{32}O_2$, 白色结晶(氯仿), mp. 60 ~ 62 °C; EI-MS m/z (rel. int. %): 256 $[M]^+$ (12), 241 (20), 227 (45), 213 (30), 199 (5), 115 (15), 73 (100); 与标准品对照一致。

尿嘧啶(9) $C_4H_4N_2O_2$, 白色粉末, EI-MS m/z (rel. int. %): 112 $[M]^+$ (82), 69 (25); FAB-MS m/z (%): 111 $[M-1]^-$ (100); 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.37 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5)。NMR 数据与文献值符合^[11]。

顺丁烯二酸(10) $C_4H_4O_4$, 无色针晶(甲醇), mp. 300 ~ 302 °C; FAB-MS m/z (%): 115 $[M-1]^-$ (100); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ : 173.2 (C-1, 4), 136.5 (C-2, 3)。NMR 数据与文献一致^[13]。

硫代乙酸酐(11) $C_4H_6O_2S$, 白色粉末, FAB-MS m/z (%): 117 $[M-1]^-$ (100); HR-FAB-MS m/z (%): 116.9962 $[M-1]^-$ (100); 1H NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 2.56 (3H, s, $-CH_3$); ^{13}C NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 176.1, 29.8 ($-CH_3$)。NMR 数据与文献值符合^[14]。

1,4-丁二酸(12) $C_4H_6O_4$, 无色方晶(甲醇), mp. 184 ~ 186 °C; FAB-MS m/z (%): 117 $[M-1]^-$ (100); 1H NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 3.02 (4H, $CH_2 \times 2$); ^{13}C NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 30.3 ($-CH_2-$), 175.4 ($-COOH$)。

1-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷(13) $C_8H_{16}O_6$, 无色糖浆, $[\alpha]_D^{26}$: +152° (c = 0.1, H_2O); FAB-MS m/z (%): 209 $[M-1]^-$ (100); 1H NMR (400 Hz, C_5D_5N) δ : 4.27 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1); 3.62, 3.97 (m, 1- CH_2-), 3.17-3.91 (m, 5H), 1.21 (t, $J = 7.0$ Hz, 1- CH_3); ^{13}C

NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 104.4 (C-1), 78.5 (C-3), 78.4 (C-5), 75.6 (C-2), 71.2 (C-4), 65.9 (C-1), 63.0 (C-6), 50.4 (1- CH_2-), 15.9 (1- CH_3)。NMR 数据与文献值符合^[14]。

2-Acetamino-2-deoxy- β -D-glucose (14)

$C_8H_{15}O_6N$, 白色针晶(甲醇), mp. 205 ~ 206 °C, $[\alpha]_D^{18}$: +52° (c = 0.2, H_2O); FAB-MS m/z (%): 220 $[M-1]^-$ (100), 202 $[M-1-H_2O]^-$ (5); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO$) δ : 169.5 (C=O), 90.6 (C-1), 72.1 (C-5), 71.2 (C-4), 70.6 (C-3), 61.2 (C-6), 54.3 (C-2), 22.7 ($-CH_3$)。NMR 数据与文献值符合^[15]。

Cerebroside B (15) $C_{41}H_{77}NO_9$, 白色粉末, mp. 144 ~ 146 °C, $[\alpha]_D^{27}$: +5.2° (c = 0.1, 甲醇); FAB-MS m/z (%): 726 $[M-1]^-$ (100), 564 $[M-1-162]^-$ (30); HRFAB-MS m/z 726.5561 $[M-1]^-$ (计算值: 726.553); 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.63 (m, H-a), 3.99 (dd, $J = 10.7, 5.4$ Hz, H-b), 4.16 (m, H-2), 4.16 (m, H-3), 5.47 (m, H-4), 5.47 (m, H-5), 1.94 (m, H-6), 1.94 (m, H-7), 5.32 (m, H-8), 1.82 (m, H-10), 1.24 (m, H-11), 1.14 (br. s, H-12), 0.78 (t, H-18), 1.45 (s, H-19), 4.15 (m, H-2'), 1.41 (m, H-3'), 1.25 (br. s, H-4' ~ H-13'), 1.25 (br. s, H-15'), 0.76 (t, H-16'), 4.98 (d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 3.31 (m, H-2''), 3.63 (m, H-3''), 3.63 (m, H-4''), 3.16 (m, H-5''), 3.86 (dd, $J = 11.8, 5.6$ Hz, H-a), 3.91 (br. s, H-b), 7.38 (d, $J = 8.7$ Hz, -NH); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 68.6 (C-1), 53.2 (C-2), 71.8 (C-3), 130.2 (C-4), 131.3 (C-5), 38.4 (C-6), 30.6 (C-7), 122.4 (C-8), 134.5 (C-9), 31.5 (C-10), 27.3 (C-11), 28.2 ~ 27.1 (C-12 ~ C-15), 30.4 (C-16), 21.8 (C-17), 13.1 (C-18), 15.2 (C-19), 174.3 (C-1'), 71.1 (C-2'), 34.2 (C-3'), 28.2 ~ 27.4 (C-4' ~ C-13'), 27.1 (C-14'), 21.3 (C-15'), 13.3 (C-16'), 104.3 (C-1'') 73.6 (C-2''), 77.2 (C-3''), 70.5 (C-4''), 77.4 (C-5''), 61.6 (C-6'')。NMR 数据与文献值符合^[16]。

2 讨论

该真菌中大部分化合物分子量较小且极性较大。部分化合物具有一定的活性, 2-Acetamino-2-deoxy- β -D-glucose(14)为甲壳素的结构单元, 在自然界以天然产物形式出现比较罕见, 有文献报道以几丁质为原料在微生物作用下得到过该化合物的单体^[17]。尿嘧啶(9)具有明显的强心作用, 不影响心

率,而且具有增强血管收缩作用,将可能成为新型强心抗休克有效药物^[18]。硫代乙酸酐(11)被确认为松针褐斑病菌 *Lecanosticta acicola* 的致病毒素,它对湿地松、火炬松、云南松、华山松和紫茎泽兰都有伤害作用^[19]。Cerebroside B(15)具有抗肿瘤、抗病毒、免疫促进作用^[20]。

参考文献

- Withaker RH. New concepts of organisms. *Science*, 1969, 163: 150-160
- Ying JZ(应建浙), Mao XL(卯晓岚), Ma QM(马启明), *et al.* Illustrated Handbook of Chinese Medicinal Mushroom(中国药用真菌图鉴), 1st Edition. Beijing: Science Press, 1987. 409-449
- Abraham WR. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well? *Cur Med Chem*, 2001, 8: 583-606
- Ayer WA, Browne LW. Terpenoid metabolites of mushroom and related basidiomycetes. *Tetrahedron*, 1981, 37: 2199-2248
- Tan JW, Dong ZJ, Hu L, *et al.* Lepidamine, the first aristolane-type sesquiterpene alkaloid from the basidiomycete *Russula lepida*. *Helv Chim Acta*, 2003, 86: 307-309
- Vitari G, Che Z, Garlaschelli L. New nardosinane and aristolane sesquiterpenes from the fruiting bodies of *Russula lepida*. *Tetrahedron Lett*, 1998, 39: 6073-6076
- Tan JW, Dong ZJ, Liu JK. New terpenoids from basidiomycetes *Russula lepida*. *Helv Chim Acta*, 2000, 83: 3191-3197
- Gao JM, Dong ZJ, Liu JK. Constituents of the basidiomycetes *Russula cyanoxantha*. *Acta Botanica Yunnanica*, 2000, 22(1): 85-89
- Dupout MP, Llabres G, Delaude C, *et al.* Steriolic and triterpenoidic constituents of stem bark of *Drypetes gossuieri*. *Planta Med*, 1997, 63(3): 282-284
- Yu DQ, Yang JS. Manual of Analytical Chemistry(The Branch of NMR)(分析化学手册,核磁共振波谱分析), 2nd Edition. Beijing: Chemical Industry Press, 1999. 603
- Staubann R, Schubert-Zsilavecz M, Hiermann A, *et al.* A complex of 5-hydroxy-pyrrolidin-2-one and pyrimidine-2, 4-dione isolated from *Jatropha curcas*. *Phytochemistry*, 1999, 50: 337-338
- Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, *et al.* Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochemistry*, 1988, 27: 2777-2779
- Lawrence HM, Sidney DR. Solid-state ¹³C and ¹H NMR study of anomalous acid salts of dibasic carboxylic acids. *Mag Res Chem*, 1992, 30: 440-442
- Gao JM(高锦明), Shen J(沈杰), Liu JK(刘吉开), *et al.* The constituents of *Russula ochroleuca* basidiomycetes. *Acta Botanica Yunnanica*(云南植物研究), 2001, 23(3): 385-392
- Pistia-Brueggeman G, Hollingsworth RI. The use of the O-nitriphenyl as a protecting /activating group for 2-acetamido-2-deoxyglucose. *Carbohydr Res*, 2003, 338(5): 455-458
- Higuchi R, Inagaki M, Togawa K, *et al.* Isolation and structure of cerebrosides from the sea cucumber *Pentacta australis*. *Liebigs Ann Chem*, 1994, 7: 653-655
- Matahira K, Yoshiharu H. Characteristics and applications of natural N-acetylglucosamine as health food material. *New Food Ind*, 1999, 41(9): 9-13
- Han CY(韩公羽), Liang HQ(梁华清), Zhang WD(张为东), *et al.* Studies on the alkaloids and a new cardiac principle isolated from Jiangyou Fuzi *Conium maculatum*. *Natural Product R&D*(天然产物研究与开发), 1997, 9(3): 30-34
- Yang B(杨斌). Studies on pathogenic toxins of *Lecanosticta acicola*. Nanjing Forestry University, Ph.D(南京林业大学博士论文), 2000. 51
- Natori T, Morita M, Akimoto K, *et al.* Agelasphins, novel anti-tumor and immunostimulatory cerebrosides from the marine sponge *Agelas mauritanus*. *Tetrahedron*, 1994, 50(9): 2771-2784